

海馬における虚血性細胞障害 -遅発性細胞死の機序について-

著者	林 敬
号	971
発行年	1987
URL	http://hdl.handle.net/10097/19815

氏 名（本籍）	はやし 林	たかし 敬
学 位 の 種 類	医	学 博 士
学 位 記 番 号	医 博 第	9 7 1 号
学位授与年月日	昭 和	6 2 年 3 月 2 5 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当	
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学研究科 (博士課程) 内科学系専攻	
学 位 論 文 題 目	海馬における虚血性細胞障害 — 遅発性細胞死の機序について —	

(主 査)

論文審査委員 教授 小 暮 久 也 教授 松 沢 大 樹

教授 丹 治 順

論文内容要旨

序 論

海馬CA1錐体細胞は、虚血侵襲に対し特異的に脆弱である事が知られていたが、その細胞死の過程においてホメオスタシスが保たれたまま死んでいくという遅発性死の経過を辿る事が判明したのは最近のことである。現在、この細胞死の機序に関し虚血中から再開通早期にかけてのシナプス前部からの glutamate の過剰放出が引き金になり細胞膜の calcium を中心としたイオン透過性が上昇し、それが細胞死に結びつくと考えられている。一方、CA1では再開通早期よりタンパク合成が非可逆的に抑制されており、このような修復機転の障害が後の細胞死の原因になる可能性もある。本研究においてチャンネル遮断薬あるいは膜安定化剤として、いくつかの既知の薬剤に加え、新規グルタミン酸遮断薬としてMLV6976を、calcium拮抗薬としてNC1100を用い *in vivo* での細胞死の予防効果及び虚血後のタンパク合成に対する作用を調べる事により、上記の仮説の一部を検討した。

実 験 方 法

①実験1 JCL系Wistar rat を用いた、4主幹動脈結紮(4VO)モデルを作製し、生理学的パラメーター、rCBF、水分含量を測定した。次に、再開通72時間目あるいは1週間目の病理組織から、CA1病変に対しmorphometryを行い虚血時間と細胞脱落との関連を検討後、各種薬剤の虚血前あるいは後投与での遅発性細胞死に対する効果を調べた。なお、使用した薬剤は、MLV6976、NC1100、pentobarbital、phenobarbital、flunarizine、diphenylhydantoinである。

②実験2 JCL、GBSの2系の雄性m. gerbil を用い各々5分間、両側総頸動脈を結紮し、再開通時に薬剤投与後1週間目に動物を固定、組織切片を作製しCA1部のmorphometryを行った。薬剤は、pentobarbital、MLV6976、NC1100、diphenylhydantoinを使用した。

③ ②の細胞壊死に対して薬剤の有効性を認めた系において、5分虚血再開通時、pentobarbital、MLV6976、NC1100を投与した。その後4時間、pentobarbital投与群はこれに加え1日、3日、6日目に¹⁴C-methionineのTCA不溶性画分への取り込みを定性的autoradiogramにより検討した。

結 果 お よ び 考 察

rat 4VO model において、虚血後、水分含量、rCBFとも再開通早期に変動したものの後には回復傾向にあった。しかし、海馬では72時間後、水分含量、rCBFとも組織病変に一致して

再び増加した。また、CA1 病変と虚血時間との間には、明らかな相関が認められた。そこで、20分虚血再開通時に pentobarbital, MLV 6976 を投与したがCA1 細胞の遅発性細胞死に対して有意な効果はみられなかった。同様に、20分虚血前投与の系においても、phenobarbital, diphenylhydantoin, flunarizine とも無効であった。しかし、他施設では、flunarizine等が有効であったという報告もあり虚血侵襲が強いことが予想された。そこで10分虚血にすると後投与でMLV 6976 はCA1 病変を有意に改善した。一方、gerbil の系では、pentobarbital, MLV 6976, NC1100 はいずれも有意な効果を示したのに対し、diphenylhydantoin は無効であった。ところが、同じ虚血時間でも、2社の distributor 間で侵襲が明らかに異なりそれにより薬剤の効果も減弱する傾向にあった。以上より、CA1 の遅発性細胞死に対し、ある侵襲の範囲ではあるが、calcium 拮抗薬の他に、glutamate channel blocker や興奮膜の安定化作用を有する薬剤が有効な事が判明した。さらに、本実験で有効性を認めた薬剤に関し、gerbil でのCA1細胞のタンパク合成に対する作用を調べた結果、再開通4時間から1日では対照群、薬剤投与群とも著明なタンパク合成の低下がみられた。一方、再開通3日以降では対照群ではCA1細胞の脱落に一致してタンパク合成の低下を示したのに対し、pentobarbital 投与群では細胞の残存とタンパク合成の回復を認めた。以上より、初期のタンパク合成の低下は細胞の予後に一致するとは限らない事が明らかになった。また、この結果より細胞死にタンパク合成の低下が直接関与しているというよりは、虚血中から再開通早期にかけて比較的代謝回転が長い細胞構成タンパク等に障害が及ぶ事が重要であることが示唆された。

結 語

本研究の結果より、いくつかの channel blocker あるいは、膜安定化剤が有効であったことから、CA1 の遅発性細胞死の機序に対し、虚血中から再開通早期にかけての細胞内イオン環境の攪乱が関与している事が強く示唆された。また、再開通早期のタンパク合成の低下は、必ずしも細胞の生死に一致しない事を明らかにした。

審 査 結 果 の 要 旨

虚血性の神経細胞死の機序はこれまで血流の途絶によって生ずるエネルギー代謝を始めとするホメオスタシスの異常が主な要因として考えられていた。しかし、最近、ごく短時間の虚血負荷後、血流を再開させると、ホメオスタシスは完全に回復するにもかかわらず、2～3日の潜時を経て典型的な虚血性病変がCA1と呼ばれる海馬の限局した領域に発現することが報告された。この現象は、遅発性細胞死と呼ばれ、今日まで報告されたいかなる虚血性病変とも異なっている。現在、この遅発性細胞死の機序に関して、虚血中から血流再通早期にかけて、シナプス前部からの glutamate の過剰放出が引き金となり、細胞膜のCaを中心としたイオン透過性が上昇し、それが細胞死に結びつくとの説が有力である。しかし、一方では、CA1錐体細胞のタンパク合成能が再開通早期より非可逆的に抑制されているとの報告もあり、この様な修復機転の障害が細胞死の原因となる可能性も推察されている。

本研究ではいくつかのチャンネル遮断薬あるいは膜安定化薬に加え、新規 glutamate 遮断薬としてMLV 6976を、Ca拮抗薬としてNC 1100を用い、in vivoでの遅発性細胞死の予防効果及び、タンパク合成能に対する作用を調べることにより、上記仮説の一部を検討した。

その結果、いくつかのチャンネル遮断薬あるいは膜安定化薬が有効性を示したことから、この遅発性細胞死の機序に関し、虚血中から血流の再開通早期にかけて神経細胞内のイオン環境の攪乱が関与していることが強く示唆された。また、再開通早期のタンパク合成能の低下は必ずしも細胞の生死に一致しないことが明らかにされた。

以上の研究は、臨床上発生する可能性のある遅発性細胞死が、治療可能なことを強く示唆するとともに、その発生機序の解明に新知見を提示したものであり、学位授与に値すると思われる。